

GAMBARAN HISTOPATOLOGI ARTERI KORONARIA TIKUS PUTIH JANTAN GALUR WISTAR SETELAH PEMBERIAN DIET ATEROGENIK SELAMA DELAPAN MINGGU

Neneng Mutiara Sari

Enikarmila Asni

Zulkifli Malik

Ismawati

neneng.mutiarasari@gmail.com

ABSTRACT

Atherosclerosis could be induced by feeding rats aterogenic diet containing high cholesterol and colic acid. For increasing atherosclerosis process vitamin D3 also given orally. Aim this research has an aims to analyze the difference of coronary artery histopathological image between white rat strain wistar feeding by aterogenic diet and standard diet for 8 weeks. This is an experimental laboratory research with post test only design. This research used twelve rats were segregated into two groups (n=6) labeled ads control; fed standard diet and aterogenic fed diet (containing colic acid 0,2%, fat 5%, and yolk 2%) and vitamin D3. The statistic test result do not show a significant difference of aterogenic score of control group and aterogenic group. As the conclusion, feeding aterogenic diet for 8 weeks can induce the formation of accumulation of extracellular lipid in all samples of coronary artery of white rats, atheroma in 3 samples and thrombus 1 samples, while feeding standard diet just so atherosclerosis process on 4 samples, the formation of accumulation of intracellular lipid in 1 samples and atheroma in 3 sample.

Keywords : atherosclerosis, histopathology, aterogenic diet

PENDAHULUAN

Aterosklerosis adalah inflamasi yang terjadi pada dinding pembuluh darah dimana terjadinya penebalan pada dinding pembuluh darah yang ditandai dengan disfungsi endotel seperti adanya gambaran makrofag, sel busa, akumulasi lipid intra dan ekstra sel otot polos, atherom bahkan trombus.¹

Aterosklerosis berpotensi tinggi terjadi pada arteri koronaria. Hal ini karena efek hemodinamik akibat aktivitas otot jantung dan pengaruh anatomi arteri koronariayang bercabang. Efek hemodinamik menyebabkan kecenderungan terbentuknya plak pada ostium pembuluh cabang dan titik percabangan.² Hal ini dapat berujung terjadinya Penyakit Jantung

Koroner (PJK). *World Health Organization* (WHO) pada tahun 2010 menyatakan bahwa pada tahun 2008 terjadi kematian akibat Penyakit Jantung Koroner (PJK) sebanyak 17,3 juta jiwa.³ Di Indonesia berdasarkan Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) 2007 prevalensi nasional penyakit jantung adalah sebanyak 7,2 %.⁴

Hewan model dalam penelitian ini digunakan tikus berdasarkan atas kemiripan karakteristiknya dengan manusia, baik dari segi fisiologi dan anatomi. Digunakannya tikus jantan karena pada tikus jantan tidak ada hormon yang dapat mempengaruhi profil lipid yaitu hormon estrogen.⁵ Pada dasarnya tikus relatif tahan terhadap aterosklerosis. Pada tikus sebagian besar kolesterol yang beredar dalam tubuhnya ditemukan kolesterol densitas tinggi atau dikenal dengan *High Density Lypoprotein - Cholesterol* (HDL-C) yang menyebabkan tikus tahan terhadap aterosklerosis. Pellizon (2008)⁶ menyatakan bahwa pemberian asam kolat (~ 0,1 % sampai 0,5 %) pada diet tinggi lemak (~ 35 % kkal) dan kolesterol (~ 0.5 % sampai 1 %) dapat menyebabkan kadar kolesterol densitas rendah yang dikenal dengan *Low Density Lypoprotein - cholesterol* (LDL-C) menjadi meningkat.

Penambahan asam kolat dalam diet aterogenik berperan dalam meningkatkan kolesterol dalam tubuh. Hal ini juga terjadi pada pemberian kuning telur. Penelitian

Prasetyo *et al* (2000)⁷ mendapatkan bahwa pemberian kuning telur pada tikus selama 8 minggu dapat meningkatkan kadar kolesterol total yaitu 218,8 mg/dl juga pemberian lemak kambing yang dilakukan Isvhadila (2012)⁸ mendapatkan hasil terjadinya peningkatan kolesterol dalam darah. Lain hal dengan pemberian vitamin D3 dimana menurut Pang *et al* (2010)⁹ pemberian vitamin D3 disamping diet aterogenik dapat meningkatkan kalsifikasi pada pembuluh darah. Berdasarkan hal yang tersebut di atas maka dalam penelitian ini digunakan diet aterogenik yang mengandung kolesterol 2% (kuning telur), lemak kambing 5%, asam kolat 2 % serta di tambahkan dengan induksi vitamin D3.

Lesi aterosklerosis sudah bisa terbentuk pada arcus aorta tikus putih jantan galur wistar setelah pemberian diet aterogenik selama 8 minggu seperti sel busa . Hal ini dibuktikan oleh Muwarni, Ali dan Muliarta (2006)¹ dengan memberikan diet kolesterol 2%, asam kolat 0,2% dan lemak babi 5 % kepada tikus putih galur wistar selama 8 minggu.

Berdasarkan tingginya prevalensi PJK dan hasil penelitian yang telah dilakukan peneliti lain terhadap arcus aorta pada minggu kedelapan, maka peneliti ingin meneliti pada arteri koronaria pada tikus putih galur wistar yang telah diberi diet aterogenik selama delapan minggu.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini bersifat eksperimental laboratoik dengan post test only group design untuk mengetahui perubahan pada dinding arteri koronaria yang telah diberi diet aterogenik selama 8 minggu. Penelitian ini dilakukan di RSUD Arifin Ahmad Provinsi Riau dan Laboratorium Biokimia FK UR pada bulan September 2013 sampai November 2014. Subjek dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan galur wistar yang berjumlah 12 ekor yang berumur 2-3 bulan dengan berat badan rata – rata 160 – 240 gram yang dibagi dalam dua kelompok, yaitu kelompok kontrol dan kelompok aterogenik.

1. Kelompok kontrol

Kelompok yang diberi pakan standar tanpa diberi diet aterogenik dan viyamin D3

2. Kelompok aterogenik

Kelompok yang diberikan diet aterogenik yang mengandung kuning telur 0,2%, asam kolat 2%, lemak kambing 5% dan pakan pakan standar 92,8 % yang diberikan 20 gran setiap hari serta diberikan vitamin D3 sebanyak dua kali yaitu pada minggu pertama dan kelima dengan cara disondekan.

Pemeriksaan histopatologi

Pada minggu ke-8 tikus dikorbankan dan diambil bagian aretri koronaria tikus tersebut untuk dilakukan

pemeriksaan histopatologi dari jarinagn tersebut. Jaringan yang di ambil diwarnai dengan Hematoxylen Eosin (HE)

Analisis data

Data dianalisis dengan statistic dengan menggunakan uji t tidak berpasangan.

Etika Penelitian

Penelitian ini telah dinyatakan lulus kaji etik oleh Panitia Tetap Etik Penelitian Kedokteran/Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Riau Nomor : 94/UN19.1.28/UEPKK/2014.

HASIL

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Riau dan Laboratorium Patologi Anatomi Rumah Sakit Umum Daerah (RSUD) Arifin Ahmad Provinsi Riau pada bulan September 2013 sampai November 2014 tentang gambaran histopatologi arteri koronaria tikus putih jantan galur wistar setelah pemberian diet aterogenik selama 8 minggu mendapatkan hasil sebagai berikut.

Gambaram histopatologi kelompok aterogenik yang diberikan diet aterogenik dan vitamin D3 terlihat adanya gambaran makrofag, sel busa, akumulasi lipid ntra dan ekstrasel otot polos, atherom dan thrombus seperti yang tertera pada tabel (1) berikut ini.

Tabel 1 Data gambaran mikroskopis pada arteri koronaria tikus putih jantan galur wistar yang diberi diet aterogenik selama 8 minggu

No Sampel	Makrofag	Sel busa	Lipid intrasel	Lipid ekstrasel			Atheroma	trombus
				0	+	++		
1				-	-			-
2				-	-		-	-
3				-	-		-	-
4				-	-		-	-
5				-	-			-
6				-	-			
Jumlah	6	6	6	0	-	6	3	1
Persentase	100 %	100 %	100 %	0 %	0 %	100 %	50 %	16,67 %

Gambaran histopatologi kelompok kontrol yang diberikan pakan standar terlihat adanya gambaran makrofag, sel busa, akumulasi lipid intra dan ekstrasel otot polos dan atheroma seperti yang tertera pada table (2) berikut ini.

Tabel 2 Data gambaran mikroskopis pada arteri koronaria tikus putih jantan galur wistar yang diberi pakan standar selama 8 minggu

No Sampel	Makrofag	Sel busa	Lipid intrasel	Lipid ekstrasel			Atheroma	trombus
				0	+	++		
1				-		-	-	-
2				-	-			-
3	-	-	-	-	-	-	-	-
4				-	-			-
5	-	-	-	-	-	-	-	-
6				-	-			-
Jumlah	4	4	4	0	1	3	3	0
Persentase	66,67 %	66,67 %	66,67 %	0 %	16,67 %	50 %	50 %	0 %

Perbandingan skor penilaian arteri koronaria yang telah diberi diet aterogenik dengan gambaran

arteri koronaria yang diberi pakan standar selama delapan minggu

Tabel 3 Skor lesi aterosklerosis arteri koronaria Rattus Novergicus yang diberi diet aterogenik

No	Skor lesi aterosklerosis yang diberi pakan standar	Skor lesi aterosklerosis yang diberi diet aterogenik
1	3	6
2	6	4
3	0	4
4	6	4
5	0	6
6	6	6

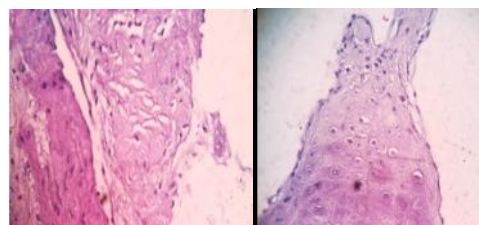
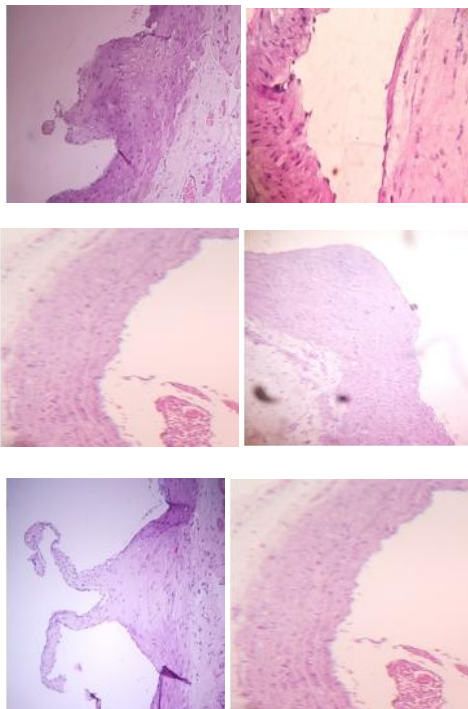
P = 0,270

Untuk mengetahui kebermaknaan perbedaan dari lesi aterosklerosis pada hewan yang diberi pakan standar dengan yang diberi diet aterogenik maka dilakukan uji t tidak berpasangan dan

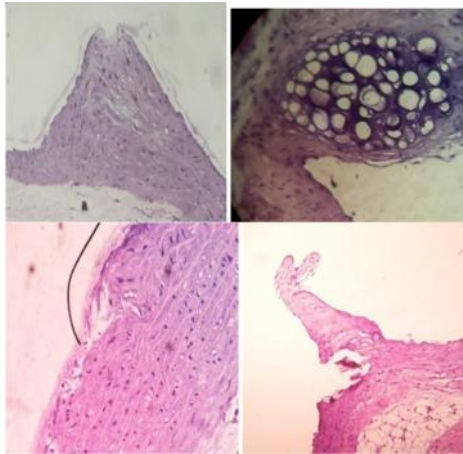
didapatkan hasil perhitungan nilai $p > 0,05$ yang berarti pemberian diet aterogenik terhadap skor lesi aterosklerosis arteri koronaria Rattus Novergicus tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna.

diberi pakan standar perbesaran 40x

Gambar 1 menunjukkan tidak pada semua sampel terbentuk lesi aterosklerosis seperti makrofag, sel busa, akumulasi lipid intrasel dan ekstrasel otot polos, aterom. Dari 6 sampel terdapat 2 sampel yang masih utuh.



Gambar 1. Arteri koronaria tikus putih jantan galur wistar yang



Gambar 2. Arteri koronaria tikus putih jantan galur wistar yang diberi diet aterogenik selama 8 minggu perbesaran 40x

Gambar 2 menunjukkan terjadi lesi aterosklerosis pada semua sampel seperti makrofag, sel busa, akumulasi lipid intrasel dan ekstrasel otot polos, aterom dan thrombus. Tetapi dari 6 sampel hanya 1 sampel yang mengalami thrombus.

PEMBAHASAN

Gambaran pemberian diet aterogenik selama 8 minggu terhadap histopatologi arteri koronaria Rattus Novergicus

Berdasarkan hasil penelitian yang telah didapatkan terbukti bahwa pemberian diet aterogenik selama 8 minggu kepada tikus putih jantan galur wistar terbukti dapat menimbulkan lesi aterosklerosis pada arteri koronaria tikus putih jantan galur wistar. Diet aterogenik yang diberikan pada hewan coba bertujuan untuk meningkatkan kadar LDL yang akan memicu terbentuknya lesi aterosklerosis. Hewan yang

mendapatkan diet aterogenik tersebut akan mudah terkena aterosklerosis.

Kelompok yang diberikan diet aterogenik dalam penelitian ini terlihat adanya gambaran lesi aterosklerosis pada sediaan mikroskopis. Lesi aterosklerosis yang terlihat tersebut berupa adanya sel busa, akumulasi lipid intrasel, akumulasi lipid ekstrasel, aterom dan trombus.

Sampai saat ini peneliti belum banyak menemukan penelitian aterosklerosis pada organ arteri koronaria, namun kebanyakan meneliti pada organ aorta seperti yang dilakukan oleh Yanuartono (2007)⁴⁵ terhadap aorta tikus yang diberi diet kolesterol murni (ICN, Spain), lemak hewan, kasein, maizena, mineral, agar dan sukrosa tanpa menggunakan vitamin D3 selama 6 minggu yang mendapatkan hasil adanya gambaran lesi aterosklerosis pada aorta. Pada penelitian tersebut dijelaskan bahwa pada minggu ke enam telah terbentuk lesi aterom pada aorta tikus. Hasil penelitian tersebut sama dengan hasil penelitian yang dilakukan pada arteri koronaria pada penelitian ini. Hanya saja karena penelitiain ini dilakukan selama 8 minggu sehingga lesi yang terjadi sudah ada yang sampai trombus.

Selain itu juga ada penelitian yang dilakukan oleh Murwani, Ali dan Muliarta (2006)¹ terhadap arcus aorta yang menggunakan diet aterogenik kolesterol 2%, asam kolat

0,2%, lemak babi 5% yang mendapatkan hasil bahwa ditemukannya sel busa. Namun pada penelitian tersebut tidak diterangkan lesi aterosklerosis yang ditemukan selain sel busa. Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pada organ yang berbeda dan minggu yang sama sel busa sama – sama bisa terbentuk.

Lain halnya dengan penelitian yang dilakukan oleh Rai (2009)⁴⁶ yang dilakukan terhadap kelinci. Penelitian yang menggunakan diet kolesterol 0,1%, methionin 1% dan peanut oil 5% selama 4 minggu didapatkan hasil telah terjadi penebalan intima minimal. Hal ini bisa dikarenakan beberapa jenis hewannya yang berbeda coba dan lama pemberian dietnya.

Selain itu juga ada penelitian yang dilakukan oleh Mustofa dkk (2014)⁴⁸ yang meneliti arteri koronaria dengan jenis tikus yang sama dan dalam jangka waktu yang sama yaitu 8 minggu dengan menggunakan diet kuning telur saja didapatkan hasil terjadinya penebalan intima. Dari hasil penelitian tersebut hasilnya sedikit berbeda dengan penelitian ini dimana pada penelitian ini gambaran histopatologi dari arteri koronaria sudah sampai tahap aterom bahkan thrombus. Hal ini bisa dikarenakan jenis pakan yang digunakan berbeda sehingga lamanya proses pembentukan plak aterosklerosis juga berbeda.

Pada penelitian ini dapat terbentuk lesi aterosklerosis mulai dari munculnya sel radang, makrofag, sel busa, akumulasi lipid intrasel otot polos, akumulasi lipid ekstrasel otot polos, ateroma bahkan sudah ada terjadi trombus. Keragaman lesi aterosklerosis yang terbentuk itu juga terpengaruh oleh beberapa faktor. Salah satu faktor yang memungkinkan adalah faktor ketahanan tubuh tikus itu sendiri terhadap terjadinya proses aterosklerosis. Respon tubuh tikus dalam melawan proses aterosklerosis berbeda – beda sehingga tingkat lesi yang terbentukpun berbeda - beda.

Penelitian dengan hewan coba yang sama, diet aterogenik yang sama, pada minggu yang sama namun pada organ yang berbeda yaitu aorta torasika juga telah dilakukan Welinsa (2014)* didapatkan hasil bahwa pembentukan lesi pada aorta torasika belum sampai tahap trombus seperti yang terjadi pada arteri koronaria.

Dari hasil penelitian tersebut ini didapatkan data bahwa pembentukan lesi pada arteri koronaria lebih cepat dari pada aorta torasika. Salah satu hal yang memungkinkan terjadinya perbedaan ini karena pengaruh dari anatomi pembuluh darah tersebut dimana aorta torasika anatominya lurus

*Hasil penelitian ini belum dipublikasikan. Terima kasih kepada Fatya Welinsa, Annisa UI Hasanah, Anwar Syaputra yang telah mengizinkan datanya digunakan dalam penelitian ini

sedangkan arteri koronaria bercabang – cabang sehingga disini berperan efek hemodinamika. Yang menyokong adanya peran efek hemodinamika adalah kecenderungan terbentuknya plak pada ostium pembuluh cabang dan titik percabangan.

Penelitian lain dengan hewan coba yang sama, organ yang sama namun pada minggu yang berbeda yaitu ke lima juga telah dilakukan oleh Ul Hasanah (2014)* dan di dapatkan hasil yang berbeda dengan hasil penelitian yang dilakukan pada minggu ke delapan ini, dimana lesi yang terbentuk pada umumnya masih pada skor 4 yaitu sampai akumulasi lipid ekstrasel dalam jumlah yang banyak dan beberapa aterom sedangkan pada yang minggu ke delapan ini telah terjadi trombus. Hal ini dikarenakan oleh lama pemberian pakan aterogenik yang berbeda.

Sedangkan yang dilakukan oleh Syaputra (2014)* juga hewan dan pakan yang sama namun lama pemberian yang berbeda yaitu dua belas lesi terbentuk aterom bahkan telah terjadi trombus hampir semua sampel. Hal ini juga diakibatkan oleh lama pemberian yang berbeda..

Gambaran pemberian pakan standar selama 8 minggu terhadap histopatologi arteri koronaria Rattus Novergicus

Berdasarkan penelitian yang dilakukan didapatkan hasil bahwa tikus putih jantan galur wistar yang

diberi pakan standar dapat terjadinya lesi aterosklerosis terhadap arteri koronaria hewan tersebut. Namun lesi itu tidak terbentuk pada semua sampel. Pada sediaan mikroskopis ada terlihat pembuluh darah arteri koronaria tikus putih jantan galur wistar yang masih utuh dimana tidak ada terlihat kerusakan endotel, sel radang, sel busa, akumulasi lipid intra ataupun ekstrasel. Namun pada beberapa hewan coba terbentuk lesi aterosklerosis bahkan sudah terbentuk aterom.

Pada penelitian yang telah dilakukan oleh Welinsa (2014)* dengan menggunakan jenis hewan yang sama, diet yang sama dan lama penelitian yang sama yaitu 8 minggu juga terjadi pembentukan lesi aterosklerosis pada hewan coba yang diberi pakan standar.

Sementara itu penelitian yang telah dilakukan oleh Muwarni (2006)¹ dengan jenis diet yang berbeda dan lama waktu penelitian yang sama didapatkan hasil pada hewan coba yang diberi pakan standar tidak ditemukan adanya gambaran lesi aterosklerosis pada hewan coba tersebut. Serta penelitian yang dilakukan oleh Mustofa (2014)⁴⁷ dengan jenis hewan dan lama pemberian yang sama namun diet yang berbeda yaitu hanya kuning telur pada hewan coba yang kontrol juga tidak ditemukan lesi aterosklerosis pada arteri koronariannya.

Perbedaan yang terjadi bisa dikarenakan beberapa faktor. Berdasarkan teori dinyatakan bahwa aterosklerosis tidak hanya dikarenakan oleh makanan saja, namun ada beberapa faktor lain yang bisa menyebabkan terjadinya aterosklerosis. Faktor – faktor tersebut adalah obesitas, hipertensi, peningkatan kadar hormon sistein, agen infeksi serta peningkatan kadar kolesterol dalam darah.³⁹ Hal ini telah dibuktikan dengan dilakukannya penelitian oleh Permana dkk (2013)⁴⁸ yang diawali dengan menginjektikan bakteri *P.gingivalis* tiga kali dalam seminggu selama 4 minggu dan didapatkan hasil terbentuknya aterom pada dinding erteri koronaria tikus tersebut.

Dari faktor – faktor yang disebutkan diatas pada dasarnya imun tubuh akan berusaha untuk melawan terjadinya penyakit. Namun pada saat homeostasis dalam tubuh terkalahkan maka terbentuklah LDL teroksidasi yang akan mengaktifkan protein kinase C sehingga meningkatkan transkripsi gen yang mengkode *angiotensin converting enzyme* dan memprofokasi stres oksidatif. Selain itu juga terjadi peningkatan ekspresi molekul adhesi seperti P-Selektin molekul adhesive antar sel dan molekul adesif sel pembuluh darah seperti Vascular Cell Adhesion Molecules-1 (VCAM-1). Peningkatan ini menyebabkan monosit lebih banyak menempel pada endothelium.³⁹

Monosit yang telah menempel berdifrensiasi menjadi makrofag dengan bantuan Monosit Stimulating Factor (M-SCF). Hal ini mengakibatkan makrofag yang berada dalam ruang sub intima semakin banyak dan menyebabkan pembentukan sel busa semakin banyak. Proses berlanjut terjadilah migrasi sel otot polos dari tunika media ke tunika media dengan bantuan misalkan *monocyte chemoattractant protein-1*, *tumor necrosis factor* , IL-1, IL- 6, CD40 dan *C-reactive protein*. Selanjutnya terangsang oksidasi LDL lebih lanjut yang bersifat sitotoksin sedangkan makrofag yang terstimulasi memproduksi matriks *metalloproteinase* yang akan mendegradasi kolagen. Sementara itu sel otot polos di tunika intima yang membentuk kapsul fibrosis menipis. Sedangkan endotel mengalami nekrosis sehingga memudahkan terjadinya ruptur pada pembuluh darah^{39,40,41}

SIMPULAN

1. Pemberian diet aterogenik selama 8 minggu pada tikus putih jantan galur wistar dapat menimbulkan lesi aterosklerosis pada semua arteri koronaria berupa gambaran makrofag (100%), sel busa (100%), akumulasi lipid intrasel (100 %) dan akumulasi lipid ekstrasel otot polos dalam jumlah yang banyak (100 %), aterom (50 %) dan thrombus (16,67 %)

2. Pemberian pakan standar selama 8 minggu ada tikus putih jantan galur wistar dapat menimbulkan lesi aterosklerosis pada arteri koronaria namun tidak pada semua arteri koronaria berupa gambaran makrofag (66,67%), sel busa (66,67%), akumulasi lipid intrasel (66,67%) dan akumulasi lipid ekstrasel otot polos dalam jumlah yang sedikit (16,67%), akumulasi lipid ekstrasel otot polos dalam jumlah yang banyak (50%), atherom (50%) sedangkan thrombus (0%).

Tidak ada perbedaan yang bermakna antara hewan coba yang diberi pakan standar dengan hewan coba yang diberi diet aterogenik

SARAN

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan variasi diet aterogenik yang berbeda serta dengan alternatif untuk mengobati aterosklerosis yang terjadi
2. Perlu dilakukan penelitian histopatologi arteri koronaria lebih lanjut dengan pewarnaan yang lebih spesifik dan penggunaan mikroskop elektron.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar – besarnya kepada pihak Fakultas Universitas Riau, dr. Enikarmila Asni, M.Biomed, M.Med.Ed dan dr.Zuklifli Malik Sp.PA selaku

pembimbing, dr.Ismawati,M.Biomed dan dr.Mardiah Gaffar, Sp.PA selaku dosen penguji dan dr.Esy Maryanti, M.Biomed selaku supervisi yang telah memberikan waktu, bimbingan, ilmu, nasehat, motivasi dan semangat kepada penulis sehingga skripsi ini dapat diselesaikan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Muwarni S, Ali M, Muliarta K. Diet aterogenik pada tikus putih (*Rattus novvergicus* strain Wistar) sebagai model hewan aterosklerosis. Jurnal Kedokteran Brawijaya.2006;22:6-12.Available from : <http://jkb.ub.ac.id/index.php/jkb/article/viewFile/278/268>
2. Kumor, Cotran, Robbins.Buku Ajar Patologi.Jakarta: Buku Kedokteran EGC;2007:7(2)
3. World Health Organization. Global status report on noncommunicable disease.2010.Available from : <http://www.who.int>
4. Riset Kesehatan dasar (RISKESDAS). Badan Penelitian dan Pengemangan Kesehatan Departemen Kesehatan , Republik Indonesi.2007
5. Yuniastuti A, Purwaningsih E. Pengaruh pemberian susu fermentasi *lactobacillus casei* galur shirota terhadap kadar fraksi lipid serum dan jumlah coliform

- serta lactobacilli pada feses tikus hiperkolesterolemi. M Med Indones [Internet]. 2004 [cited 2011 Nov 17]; 39(4)
6. Pellizon MA. Diet- Induced Atherosclerosis/Hypercholesterolemia in Rodent Models. Oktober 2008
 7. Prasetyo A, Sahdana U, Minni IP. Profil lipid danketebalandinding abdominal tikuswistarpadainjeksianisial adrenalin intra vena dan diet kuningtelurintermiten. Penelitianpendahuluan. Media Medika Indonesia.2000;135 (3). Available from : <http://www.mediamedika.net/archives/128>
 8. Isvhadila. Efek Pemeberian Buah Naga Merah (Hylocereus polyrhizus) Terfermentasi Terhadap Kadar LDL dan HDL Tikus Putih Galur Wistar yang Diberi Diet Tinggi Lemak [skripsi]. Jember. Fakultas Farmasi Universitas Jember ; 2012
 9. Pang J, Xu Q, Xu Xet al., 2010.Hexarelin suppresses high lipid diet and vitamin D3-induced atherosclerosis in the rat. Peptides31: 630-8
 10. Yunuartono. Peran diet lemakdan/ataukolesteroltinggipad apembentukanplak atheroma aorta tikusputih(SpragueDowley). Bagianilmupenyakitdalamfakultas kedokteran UGM Yogyakarta.2007:25(1)
 11. Rai S, Hare LD, Zulli A. A physiologically relevant atherogenic diet causes severaendotelial dysfunction within 4 weeks in rabbit. International journal of Experimental phatology : Blackwell Punlishing :2009:598-630
 12. Mustofa S, Aninda A, Pratiwi A, et al.The influenza of piper refrofractumvahl (java's chili) extract towards lipid profile and histology of rats coronary artery with higt-fat diet.medical faculty of the University of Lampung.JUKE.2014;4(7):52-59
 13. Permana R, Rizqif, Pradana A, et al. Historphometrial analysis of coronary atherosclerosis lesion formation in rat (Rattus novergicus) models. Faculty of Dentistry Universitas of Jember. Journal of Dentistry Indonesia.2013 ;20 (3):73-77